

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**



**EVALUACIÓN DE EXTRACTOS DE *Hippocratea excelsa*, *Glychirrizia glabra* Y
Urtica dioica EN BACTERIAS DE INTERÉS ODONTOLÓGICO.**

POR

JAQUELINE FUENTES MATA

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRÍA EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS EN EL ÁREA DE
ODONTOPEDIATRÍA**

MARZO, 2018

**EVALUACIÓN DE EXTRACTOS DE *Hippocratea excelsa*, *Glychiriza glabra* Y
Urtica dioica EN BACTERIAS DE INTERÉS ODONTOLÓGICO.**

ACEPTADOS

Comité de Tesis

Dra. en C. Laura Elena Villarreal García

Director de Tesis

Dra. Hilda H. H. Torre Martínez

Co-director

**EVALUACIÓN DE EXTRACTOS DE *Hippocratea excelsa*, *Glychirrizia glabra* Y
Urtica dioica EN BACTERIAS DE INTERÉS ODONTOLÓGICO.**

ACEPTADOS

Comité de Evaluación de Tesis

Dra. Miriam Angélica de la Garza Ramos

Presidente

Dra. Laura Elena Villarreal García

Secretario

Dra. Sonia Martha López Villarreal

Primer Vocal

Segundo Vocal

Tercer Vocal

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios primeramente por todas las bendiciones de las que me ha rodeado, por su fidelidad, amor y misericordia.

Agradezco a mis padres por apoyarme e impulsar mi camino, por siempre estar presentes y animarme a cumplir mis metas, gracias por respaldar mis sueños con su amor y paciencia.

A mis maestros por ser pieza fundamental en este camino lleno de aprendizaje que estoy consciente no acaba, agradezco sus enseñanzas y su apoyo, su ejemplo es un impulso para mí.

LISTA DE TABLAS

Tabla	Página
1. Actividad inhibitoria sobre <i>Streptococcus sobrinus</i> según la concentración del extracto natural de <i>Hippocratea excelsa</i> “Cancerina”	33
2. Actividad inhibitoria sobre <i>Streptococcus sobrinus</i> según la concentración del extracto natural de <i>Glychiriza glabra</i> “Oruzuz”	34
3. Actividad inhibitoria sobre <i>Streptococcus sobrinus</i> según la concentración del extracto natural de <i>Urtica dioica</i> “Ortiga”	35
4. Actividad inhibitoria sobre <i>Streptococcus mutans</i> según la concentración del extracto natural de <i>Hippocratea excelsa</i> “Cancerina”	36
5. Actividad inhibitoria sobre <i>Streptococcus mutans</i> según la concentración del extracto natural de <i>Glychiriza glabra</i> “Oruzuz”	37
6. Actividad inhibitoria sobre <i>Streptococcus mutans</i> según la concentración del extracto natural de <i>Urtica dioica</i> “Ortiga”	38

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1 <i>Hippocratea excelsa</i> 100 gr.....	24
2. <i>Glychiriza glabra</i> 100gr.....	25
3. <i>Urtica dioica</i> 50 gr.....	25
4. Extractos con 500 ml de alcohol etílico al 96%.....	26
5. Distribución en placa de cultivo de 96 pozos.....	27

NOMENCLATURA

UANL	Universidad Autónoma de Nuevo León
Fig.	Figura
AAPD	Academia Americana de Odontología Pediátrica
CMI	Concentración Mínima Inhibitoria
OMS	Organización Mundial de la Salud
DPPH	Difenil-2-picrihidrazil
VIH	Virus de Inmunodeficiencia Humana
SIDA	Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida
mm	milímetros
mg	miligramos
ml	Mililitros
ETOH-H2O	Extracto hidroetanólico
gr	gramos
MTT	Bromuro de 3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2,5-difeniltetrazolium

TABLA DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS	4
LISTA DE TABLAS.....	5
LISTA DE FIGURAS	6
RESUMEN	9
ABSTRACT	10
1. INTRODUCCIÓN.....	11
<p>Las enfermedades bucales de mayor prevalencia a nivel mundial son la caries y la enfermedad periodontal, en ambas se ve involucrado componentes infecciosos por lo que las bacterias relacionas tienen una importancia vital para el desarrollo de la enfermedad, considerando que un porcentaje muy elevado de la población no cuenta con cobertura de seguridad social principalmente en áreas marginadas es importante el desarrollo de sustancias que tengan actividad contra las bacterias que originan estas enfermedades y que se encuentren al alcance de la población.</p>	
<p>Las características ideales de los enjuagues bucales que tienen actividad preventiva y de tratamiento en caries dental tienen que ver con su efectividad frente a los organismos patógenos, con bajos o nulos efectos adversos y de bajo costo de producción.</p>	
2. HIPOTESIS	12
3. OBJETIVO	13
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	13
4. ANTECEDENTES.....	14
4.1 BACTERIAS CARIOGÉNICAS	16
4.2 PLANTAS DE ESTUDIO.....	18
4.2.1 <i>Hippocratea excelsa</i> /Cancerina.....	19
4.2.2 <i>Glycyrrhiza glabra</i> /Regaliz-Orozuz raíz	20
4.2.3 <i>Urtica dioica</i> /Ortiga	22
4.3 MARCO DE REFERENCIA.	24
5. MÉTODOS.....	29
5.1 Selección y preparación del extracto natural	29
5.2 Test de difusión en disco	30
6. RESULTADOS.....	33
7. DISCUSIÓN	43
8. CONCLUSIONES	44
9. LITERATURA CITADA	45

RESUMEN

INTRODUCCIÓN: Las enfermedades bucales de mayor prevalencia a nivel mundial son la caries y la enfermedad periodontal, en ambas se ve involucrado componentes infecciosos por lo que las bacterias relacionadas tienen una importancia vital para el desarrollo de la enfermedad, por lo que es importante el desarrollo de sustancias que tengan actividad contra las bacterias que originan estas enfermedades y que se encuentren al alcance de la población. **OBJETIVO:** Evaluar la actividad antibacteriana de los extractos obtenidos de *Hippocratea excelsa*, *Glychirrizia glabra* y *Urtica dioica* en modelos *in vitro*. **METODOLOGÍA:** Se preparó el extracto natural de las plantas en estudio mediante método de maceración; posteriormente se realizó el test de difusión en agar para la verificación de la acción antimicrobiana de estos extractos en estudio, sobre cepas de *S. mutans* y *S. sobrinus* en diferentes concentraciones de la infusión, inoculando y sembrando sobre medio de cultivo Mueller Hinton; el control positivo se realizó con clorhexidina al 0.12% y como control negativo agua destilada con alcohol al 5%, se determinó la concentración mínima inhibitoria mediante técnica de microdilución en placas de 96 pozos, utilizando MTT. **RESULTADOS:** Se observó actividad bacteriostática sobre *S. sobrinus* con el extracto de *Glychirrizia glabra* en la concentración de 1000 µg/ml y 500 µg/ml con halos de 14-17 mm, de igual forma con el extracto de *Urtica dioica* en la concentración de 1000 µg/ml y 500 µg/ml con halos de 17 mm, en las concentraciones de 250 µg/ml y 125 µg/ml mostraron halos de 15 mm. La actividad bacteriostática sobre *S. mutans* con el extracto de *Glychirrizia glabra* se observó en la concentración de 1000 µg/ml al registrar un halo de 16 mm. En la concentración de 500 µg/ml un halo de hasta 17 mm. Con el extracto de *Urtica dioica* se observó actividad bacteriostática en la concentración de 1 000 µg/ml mostrando halos de hasta 26 mm. **CONCLUSIÓN:** Se considera que los extractos de *Urtica dioica* y *Glychirrhiza glabra* son los más específicos para evaluar su desempeño como opción terapéutica contra la caries dental, sin embargo, se recomienda que se realicen más estudios respecto a su selectividad contra más bacterias cariogénicas como *Lactobacillus acidophilus*, y concluyendo su efectividad continuar con estudios de citotoxicidad y mutagenicidad para garantizar la seguridad para su uso clínico. **PALABRAS CLAVE:** odontopediatría, *Hippocratea excelsa*, *Glychirrizia glabra*, *Urtica dioica*

ABSTRACT

INTRODUCTION: The most prevalent oral diseases worldwide are caries and periodontal disease, in both of which infectious components are involved, so the related bacteria are of vital importance for the development of the disease, which is why is important the development of substances that have activity against the bacteria that cause these diseases and that are within reach of the population. **OBJECTIVE:** To evaluate the antibacterial activity of extracts obtained from *Hippocratea excelsa*, *Glychirrizia glabra* and *Urtica dioica* in vitro models. **METHODOLOGY:** The natural extract of the plants under study was prepared by maceration method; subsequently, the agar diffusion test was carried out to verify the antimicrobial action of these extracts under study, on strains of *S. Mutans* and *S. Sobrinus* in different concentrations of the infusion, inoculating and sowing on Mueller Hinton culture medium; the positive control was carried out with 12% chlorhexidine and, as a negative control, distilled water with 5% alcohol, the minimum inhibitory concentration was determined by means of a microdilution technique in 96-well plates, and in vitro evaluation of the bacterial activity of the extracts of *Glychirrizia glabra* and *Urtica dioica* by the dilution method. **RESULTS:** Bacteriostatic activity was observed on *S. sobrinus* with the extract of *Glychirrizia glabra* in the concentration of 1000 and 500 with halos of 14-17 mm, in the same way with the extract of *Urtica dioica* in the concentration of 100 and 500 with haloes of 17 mm, in the concentrations of 250 and 125 showed haloes of 15 mm. The bacteriostatic activity on *S. mutans* with the extract of *Glychirrizia glabra* was observed in the concentration of 1,000 when registering a halo of 16 mm. At the concentration of 500 a halo of up to 17 mm. with the extract of *Urtica dioica* bacteriostatic activity was observed in the concentration of 1,000 showing haloes up to 26 mm. **CONCLUSION:** It is considered that the extracts of *Urtica dioica* and *Glychyrrhiza glabra* are the most specific to evaluate their performance as a therapeutic option against dental caries, however, it is recommended that more studies be carried out regarding their selectivity against more cariogenic bacteria such as *Lactobacillus acidophillus*, and concluding its effectiveness continue with studies of cytotoxicity and mutagenicity to guarantee the safety for its clinical use. **KEY WORDS:** **pediatric dentistry, Hippocratea excelsa, Glychirrizia glabra, Urtica dioica**

1. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades bucales de mayor prevalencia a nivel mundial son la caries y la enfermedad periodontal, en ambas se ve involucrado componentes infecciosos por lo que las bacterias relacionadas tienen una importancia vital para el desarrollo de la enfermedad, considerando que un porcentaje muy elevado de la población no cuenta con cobertura de seguridad social principalmente en áreas marginadas es importante el desarrollo de sustancias que tengan actividad contra las bacterias que originan estas enfermedades y que se encuentren al alcance de la población.

Las características ideales de los enjuagues bucales que tienen actividad preventiva y de tratamiento en caries dental tienen que ver con su efectividad frente a los organismos patógenos, con bajos o nulos efectos adversos y de bajo costo de producción.

Los extractos de plantas se han usado de manera milenaria por el hombre, en su búsqueda de abatir la enfermedad. A partir de los mismos es que se han aislado moléculas que resultan ser el componente principal de diferentes fármacos terapéuticos. Es por ello que el presente estudio se propuso evaluar la actividad antibacteriana de los extractos obtenidos de *Hippocratea excelsa*, *Glychiriza glabra* y *Urtica dioica* en modelos *in vitro*, contra bacterias cariogénicas para identificar si corresponden a una alternativa de origen natural, con acceso a todos los ámbitos socioculturales como que pueda ser utilizada como coadyuvante en el tratamiento preventivo de la caries dental.

2. HIPOTESIS

Este estudio se plantea la siguiente hipótesis de estudio:

“Los extractos de las plantas *Hippocratea excelsa*, *Glychiriza glabra* y *Urtica dioica* presentan actividad antimicrobiana en la evaluación antibacteriana *in vitro* con *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sobrinus*.”

3. OBJETIVO

3.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar la actividad antibacteriana de los extractos obtenidos de *Hippocratea excelsa*, *Glychiriza glabra* y *Urtica dioica* en modelos *in vitro* contra bacterias cariogénicas.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Obtener de los extractos de las plantas de estudio mediante técnica de maceración
2. Evaluar el efecto antibacteriano de los extractos obtenidos con las bacterias *S. mutans* y *S. sobrinus*
3. Obtener la concentración mínima inhibitoria (MIC) de los extractos que hayan presentado potencial terapéutico.

4. ANTECEDENTES.

Se considera a la caries dental como un proceso patológico complejo, de origen infeccioso y transmisible, que afecta a las estructuras dentarias, y se caracteriza por un desequilibrio bioquímico que de no ser revertido a favor de los factores de resistencia conduce a cavitación y alteraciones del complejo dentino-pulpar.

Mayor *et al*, en su escrito en el 2014, destaca que desde los tiempos más remotos el ser humano ha tenido una incesante preocupación por las enfermedades del aparato masticatorio y su reparación. En la época del papiro de Ebers, descubierto en 1875 (documento más antiguo conocido, en el que se exponen causas de caries y se propone su curación), hasta nuestros días, ha sido incesante el aporte de ideas para explicar la presencia de la enfermedad y los recursos para combatirla.

La caries dental es multifactorial, constituye actualmente la enfermedad crónica más frecuente en el ser humano, pues del 90 al 95 % de la población sufre esta patología, siendo responsable de la pérdida de la mitad de las piezas dentarias. (Mayor *et al*., 2014)

Una de las enfermedades de mayor prevalencia e incidencia en la población latina, es la caries dental, que se manifiesta principalmente por dolor y pérdida temprana de dientes, causando complicaciones a corto y largo plazo, en muchas de las ocasiones deteriora la calidad de vida, de los pacientes quienes la padecen en su forma severa. La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha definido la caries dental como un proceso localizado de origen multifactorial que se inicia después de la erupción dentaria,

determinando el reblandecimiento del tejido duro del diente que puede evolucionar hasta la formación de una cavidad. Si no se atiende oportunamente, afecta la salud general y la calidad de vida de los individuos. La caries dental junto con la enfermedad periodontal, constituyen el mayor porcentaje de morbilidad dentaria durante toda la vida de un individuo. Afecta a personas de cualquier edad, sexo y raza; teniendo una mayor presencia en sujetos de bajo nivel socioeconómico. Esta situación guarda relación directa con un deficiente nivel educativo, una mayor frecuencia en el consumo de alimentos ricos en sacarosa entre las comidas y el tiempo en que estos permanecen en la boca (Guerrero A *et al.*, 2013).

La caries es una enfermedad infecciosa de etiología multifactorial que se caracteriza por la desmineralización de las porciones orgánicas del diente y el deterioro posterior de sus partes orgánicas. Este proceso destructivo surge de las acciones de algunos microorganismos de la placa dentobacteriana sobre los carbohidratos fermentables que generan la producción de ácidos, principalmente lácticos, como parte del metabolismo de las bacterias. El progreso de la lesión cariosa requiere, además de los factores anteriormente citados, un diente susceptible y un tiempo suficiente de exposición que permita no sólo la producción de ácidos por parte de las bacterias de la placa, sino también la desmineralización del tejido duro del diente. La placa dental, o biopelícula, está constituida por conjuntos de bacterias unidas a la estructura del diente; cuando el pH de la saliva es bajo, debido al consumo frecuente de azúcares, se modifican las condiciones medioambientales locales favoreciendo el predominio de las bacterias cariogénicas y la disminución de la saliva. Se ha reportado la existencia de una ventana de infectividad de los microorganismos cariogénicos a los 19-31 meses, y hay estudios

que incluso la han encontrado en edades más tempranas, lo que hace que el niño tenga más posibilidades de contraer la enfermedad anteriormente (Molina N *et al.*, 2015).

Desde la antigüedad el hombre a buscado en la naturaleza a través de las plantas sustancias terapéuticas con indicaciones para mejorar su salud. Existen antecedentes como el Código Badiano donde se registran algunas de las aplicaciones que culturas como la azteca y maya utilizaban como tratamiento para atender las enfermedades que los aquejaban.

La extracción y caracterización de moléculas bioactivas de plantas han abierto nuevos horizontes al desarrollo de dianas farmacológicas para reducir los efectos adversos marcados de los agentes químicos (Bouassida *et al.*, 2017)

Este proyecto busca valorar la actividad antibacteriana de tres extractos de plantas para su aplicación en un contexto odontológico. A continuación se describen las variables de estudio.

4.1 BACTERIAS CARIOGÉNICAS

La cavidad oral es colonizada por diferentes microbiotas según la topografía en que se encuentren. Se han descrito más de 700 especies bacterianas que pueblan cada uno de estos nichos ecológicos.

En la concepción actual de la etiopatogenia de la caries, cambios medioambientales orales generan predominancia de algunas especies con potencial ácido génico, necesario

para la generación de lesiones de caries. En ese estado de desequilibrio, la flora oral muestra composiciones diferentes a las que se observan en salud. Así, por ejemplo, las especies tradicionalmente asociadas con lesiones de caries incluyen a *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*, *Actinomyces spp.* y *Lactobacillus spp.*

Se ha reportado que dichas especies cariogénicas se mantendrían constantes independientemente de la edad de los sujetos, aunque la evidencia al respecto es limitada y escasa. Por años se consideró a *S. mutans* como el principal agente etiológico de caries dental; su rol patogénico implicaba la iniciación de la desmineralización del esmalte en la caries coronal y de la superficie de la raíz en las caries radiculares (Giacaman R *et al.*, 2013).

La boca humana alberga una de las más diversas microbiomas en el cuerpo humano, incluyendo virus, hongos, protozoos, bacterias y arqueas. Las bacterias son responsables de las dos enfermedades más comunes de bacterias del hombre: la caries dental (caries) y enfermedad periodontal. En niños la caries dental corresponde a la enfermedad más prevalente en boca, por lo que se seleccionó dos de los microorganismos más importantes relacionados con esta etiología: *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sobrinus*.

Dos especies bacterianas estrechamente relacionados de la caries dental fue identificado por primera vez en 1924, y en 1986, se demostró el vínculo entre la caries dental y el *S. mutans* (Reed *et al.*, 2014).

Saad *et al* en el 2015 cita que la caries dental es una enfermedad común , crónica e infecciosa . Su etiología es multifactorial y las bacterias tienen el efecto más fuerte sobre

la prevalencia de caries. *Streptococcus mutans* es el principal factor patogénico en la iniciación de la caries dental.

En varios estudios sobre la colonización del *S. mutans* en niños se llegó a la conclusión de que las madres parecen ser la fuente primaria de contagio (Douglass *et al.*, 2008).

Berlutti *et al* en 2010 ha detectado que el *S. mutans* y *S. sobrinus* están presentes en la cavidad oral de los niños aun antes de la erupción dental, lo que sugiere que estos microorganismos puede no limitarse a la placa dental.

La caries dental es un grave problema en todo el mundo y en niños es la principal causa de pérdida dental (Metwalli *et al.*, 2013)

4.2 PLANTAS DE ESTUDIO

La prevención y el control de la caries dental ha sido un gran reto. Durante mucho tiempo se han utilizado diversos agentes profilácticos han sido para prevenirla entre estos podemos mencionar antibióticos, plantas y compuestos derivados de hierbas, enjuagues bucales, pastas dentales, geles, barnices y las vacunas de caries. Uno de esos métodos

practicado desde un tiempo antiguo es el uso de hierbas naturales especialmente por la gente de áreas rurales para limpiar sus dientes; se ha demostrado en diferentes investigaciones que muchas plantas o hierbas exhiben una potente actividad antimicrobiana contra varios microorganismos, estas poseen la ventaja de no ofrecer

efectos secundarios y presumiblemente actúan en contra y modulan los factores que son cruciales para la supervivencia microbiana o su actividad (Banavar R *et al.*, 2017).

4.2.1 *Hippocratea excelsa* /Cancerina

Cancerina es clasificada como *Hippocratea excelsa* de la familia *Celastraceae* (Araujo *et al.*, 2015). La familia *Hippocrateaceae* está integrada por más de 300 especies, distribuidas principalmente en las regiones tropicales de ambos hemisferios que en su mayoría están contenidas en dos géneros: *Hippocratea* con alrededor de 100 especies y *Salacia* con 200 aproximadamente. En México, *Hippocratea excelsa* es llamada popularmente mata piojo, miseg-bat en Oaxaca, barajillo en Guerrero, piojo, zipche en Chiapas y palo de reguilete en Yucatán.

En medicina tradicional se le conoce como cancerina y ha sido principalmente utilizada para el tratamiento de enfermedades como las úlceras gástricas, los padecimientos renales, las afecciones de la piel, la amenorrea y algunas infecciones uterinas. Debido principalmente a sus propiedades aparentemente curativas, la especie ha sido objeto de una sobreexplotación que, podría llevarla a la extinción. (Villa *et al.*, 1998)

Esta planta la podemos encontrar en México, en los estados de Chiapas, Oaxaca, Guerrero, Michoacán, Jalisco, México, Morelos, Durango y Yucatán (Mena *et al.*, 2007)

Décida *et al* 2007, en un estudio habla sobre las propiedades que tiene esta planta, tales como gastroprotectora , antibacteriana y con actividad anti-inflamatoria.

Desde ya hace mucho tiempo el extracto de esta planta es ampliamente utilizado en México como un agente medicinal para el tratamiento de cáncer y úlceras gástricas (Calzada *et al.*, 1995).

4.2.2 *Glycyrrhiza glabra* /Regaliz-Orozuz raíz

Es una hierba perenne de la familia Fabaceae (Akram *et al.*, 2015), que posee una amplia gama de compuestos medicinales y alimentos en su raíz y el rizoma. La aplicación de regaliz se remonta a la antigua cultura asiria, egipcia, china e india (Azmoudeh F *et al.*, 2017).

Las raíces de *Glycyrrhiza glabra* contienen muchos compuestos, como saponinas triterpenos (incluyendo glicirricina) , compuestos fenólicos, contenido en flavonoides y las isoflavonas (Glabridina y hispaglabridins A y B con una fuerte actividad antioxidante (Karami *et al.*, 2013) y puede reducirse 1,1- difenil- 2 – picrilhidrazil (DPPH) radicales (Agarwal *et al.*, 2015). Esta planta crece en climas subtropicales en Europa, Oriente Medio y Asia occidental (Nitalikar *et al.*, 2010).

El regaliz es la raíz seca de *Glycyrrhiza glabra* que tiene productos químicos valiosos tales como glucosa, sacarosa, asparagina, resina y la esencia. Las sustancias eficaces de esta planta tienen varios consumos en las industrias de farmacia, tabaco y confitería. Se le atribuyen diferentes implicaciones terapéuticas ya que se utiliza contra la hepatitis C, la piel y las enfermedades pulmonares y paros cardíacos . También mejora el sistema inmunológico y tiene propiedades antiinflamatorias, antivirales, antimicrobianos, antioxidantes y propiedades contra el cáncer (Bahmani *et al.*, 2015).

Esta planta también posee actividades farmacológicas como es ser expectorante, antitusivo , antiinflamatorias , antipiréticas (Akram *et al.*, 2015). Estudios anteriores mostraron que los derivados de *Glycyrrhiza glabra* (isoflavonas) tienen papel protector contra el estrés oxidativo (Haraguchi *et al.*, 2002).

El extracto de *Glycyrrhiza glabra* (*G.glabra*) contiene fitomedicina con propiedades antibacterianas y antifúngicas capaces de suprimir patógenos orales asociados con la formación de placas, caries o enfermedades fúngicas (Azmoudeh F *et al.*, 2017).

En cosmetología extracto de regaliz se utiliza en productos para el cuidado del cabello y la piel debido a sus valiosas propiedades: antibacteriano, anti-fúngico, antiséptico, purificante, anti-irritante, antialérgico, antioxidante, sebstático, aclarador de la piel, etc. (Kucharska K. 2017)

Investigaciones recientes han dado a conocer que la *Glycyrrhiza glabra* puede hacer mas lenta la progresión del VIH al SIDA, desencadenando el compuesto químico interferón (Eby *et al.*,2017)

4.2.3 *Urtica dioica*/Ortiga

La ortiga es una planta herbácea y vivace de origen asiático. Está integrado en varias áreas especialmente alimentarias, agrícolas, industriales y medicinales (Razika et al., 2017). La parte utilizada son las hojas desecadas de la especie *Urtica dioica* L., sus híbridos o mezcla de ambas. Son plantas herbáceas nitrófilas, que se encuentran en la mayoría de las regiones templadas del mundo, próximas a zonas habitadas, alrededor de las casas, bordes de caminos, etc. La ortiga mayor (*Urtica dioica*) alcanza entre 50 y 150 cm de altura y es la más común. Numerosos trabajos científicos han demostrado la actividad antiinflamatoria presentada por diversos extractos de *Urtica dioica*, en la que están implicados numerosos mediadores del proceso inflamatorio (Choy et al., 2015).

U. dioica, pertenece a la familia Urticaceae y crece en las zonas templadas de Asia, América, África del Norte y Europa. Algunos científicos han estudiado la composición química de *U. dioica* e informaron que sus hojas contenían una amplia variedad de componentes químicos tales como minerales, vitaminas, aminoácidos, avonoides, esteroides, compuestos fenólicos y ácidos grasos, que tienen efectos beneficiosos en la salud humana (Bouassida et al., 2017).

Además en los últimos años se ha informado científicamente sobre los efectos farmacológicos de extractos acuosos y orgánicos de la planta de ortiga, tales como antioxidante, hipoglucemiante, antifúngico, antiviral, e inmunomodulador (Ilies et al., 2012).

También se usa para el tratamiento de las enfermedades infecciosas, la lucha contra las bacterias resistentes a los fármacos y presenta actividad antibacteriana (Motamedi et al., 2014). *Urtica dioica* tiene propiedades antibacterianas y antifúngicas, por lo tanto, podría ser utilizado contra un amplio espectro de microorganismos (Moradi *et al.*, 2017).

La realización de ensayos farmacológicos ha demostrado que las saponinas brutas extraídas de las hojas de *Urtica dioica* pueden integrarse en el campo farmacéutico o incluso en cosmética (Razika et al., 2017).

4.3 MARCO DE REFERENCIA.

Quiroz *et al*, en 2013, realizaron una investigación sobre un gel a base de extractos de Nogal (*Juglans neotrópica* Diels), Ortiga (*Urtica dioica* L), sábila (*Aloe vera*). El objetivo fue evaluar la actividad cicatrizante se realizaron heridas inducidas en el dorso de los ratones. Se experimentó en ratones divididas en 5 grupos: siendo A (control negativo), B (control positivo) utilizando lamoderm, C, D, E, a los cuales se les aplicó gel al 30% a diferentes formulaciones: F1 (10% Nogal, 10% Ortiga, 10% Sábila), F2 (15% Nogal, 10% Ortiga, 5% Sábila), F3 (20% Nogal, 5% Ortiga, 5% sábila) respectivamente, administrados vía tópica con hisopos estériles aplicando dos veces al día por tiempo requerido, y se extrajo la piel para el análisis histopatológico. Para el análisis de datos se utilizó el test ANOVA. . La formulación óptima resultante fue F1 y F2, en un promedio de 6 y 7 días. En el examen histopatológico el GC, GD y GE tuvo 60% de regeneración celular. Se concluyo que el gel posee actividad cicatrizante en heridas cutáneas menores lo cual se atribuye a la presencia de taninos de nogal, flavonoides de ortiga, y mucílagos de sábila, que al combinarse presentan sinergia.

En un estudio que realizó Salehzadeh *et al*, en 2014 se demostró el efecto antimicrobiano de los extractos metanólicos de *Sambucus ebulus* y *Urtica dioica* sobre las infecciones de la piel y heridas, causadas por *S. aureus*. En 16 aislamientos de *S. aureus* resistente a meticilina. Los resultados revelaron el potencial antimicrobiano de estos extractos.

Otro estudio donde se determinó el potencial antiinflamatorio de una de las plantas de interés realizado por Arnold *et al* 2015, en ella se analizó la fosfolipasa citosólica A2 α (cPLA2 α) que es uno de los objetivos potenciales para fármacos anti-inflamatorios, ya que esta enzima juega un papel clave en los procesos de inflamación visto en trastornos de la salud. Los ocho extractos más activos fueron derivados de *Ribes nigrum* (IC50 de 27,7 mg / mL), *Ononis spinosa* (IC50 de 39,4 mg / mL), *Urtica dioica* (IC50 de 44,32 mg / ml), *Betula sp.* (IC50 de 58,02 mg / ml), *Sanguisorba officinalis* (IC50 de 76,25 mg / ml), *Orthosiphon stamineus* (IC50 de 78,83 mg / ml), *Petasites hybridus* (IC50 de 81,02 mg / ml) y *Tussilago farfara* (IC50 de 123,28 g / ml). Este estudio proporciona evidencia de que cPLA2 α puede ser un objetivo relevante para los agentes anti-inflamatorios.

Uno de los efectos que se atribuyen a la *U. dioica* es tener propiedades antiglucemiantes, lo cual fue comprobado por Bnouham *et al*, en un estudio murino en 2003.

Mediante un estudio se realizó la extracción e identificación del extracto *Urtica dioica*. Se recogieron diferentes partes de la planta y se preparó el extracto mediante maceración y percolación. Los efectos antibacterianos de la planta se identificaron mediante el método de difusión en disco. Según este estudio, *Urtica dioica* tiene propiedades antibacterianas y antifúngicas (Moradi *et al.*, 2017).

Se realizó un estudio sobre las propiedades antioxidantes y efectos de extractos de *Glycyrrhiza glabra*, sobre la viabilidad de cinco líneas celulares de cáncer humano, analizadas por su perfil químico, propiedades antioxidantes y efectos sobre la viabilidad

de cinco líneas celulares de cáncer, donde se encontraron valores de IC₅₀ por debajo de 25 µg / ml lo que significa que las partes aéreas *G. glabra* representan una buena fuente de productos valiosos (Aiello F *et al.*, 2017).

Azemoodi en el 2017 realizó un estudio en el cual demostró que el extracto de *Glycyrrhiza glabra* tiene efecto antimicrobiano en el *Streptococcus mutans*.

Se demostró el efecto antioxidante y cicatrizante de saponinas brutas de las hojas de *Urtica dioica*, La actividad antioxidante de los extractos de hojas se evaluó mediante el ensayo de difenil-picril-hidrazilo (DPPH). El efecto curativo de la herida se interpreta sobre la base del tiempo de cicatrización y la evaluación de la superficie de las heridas. De este estudio se desprende que la ortiga es rica en saponinas, ya sea 4.08% a 30 g de polvo vegetal. Los resultados también mostraron un efecto antioxidante significativo similar al del ácido ascórbico ($p > 0.05$) con una IC₅₀ de 0.159 mg / ml. . En cuanto al poder curativo, el tratamiento de las ratas con el producto basado en saponinas brutas se logra a los 15 días, ya sea el 100% de la reducción de la herida (Razika *et al.*, 2017).

Bouassida *et al.*, en el 2017 realizó una investigación con el extracto de *Urtica dioica* donde exploró el potencial hemostático y cicatrizante mediante extractos foliares, así como por su contenido avónico y polifenólico. El extracto hidroetanólico (EtOH-H₂O), que muestra las actividades antibacterianas y antioxidantes más potentes in vitro, gracias a su riqueza avonoide y polifenol, fue seleccionado para la evaluación hemostática y de curación de heridas. Veinticuatro ratas que completaron heridas de espesor total se dividieron en cuatro grupos. Las heridas se trataron tópicamente con

solución salina, glicerol, "CICAFLOA" y *U. dioica* EtOH-H₂O (50 µL / mm²) hasta el día 11. El efecto de curación de la herida se evaluó mediante parámetros macroscópicos, histológicos y bioquímicos. Las ratas tratadas con EtOH-H₂O mostraron cierre rápido de la herida (92,39%) en comparación con los animales de control (60,91%) en el día 11 de la herida ($P < 0,01$). Las exploraciones histopatológicas y bioquímicas mostraron una regeneración epidérmica completa y una mejora del contenido de hidroxiprolina en las ratas tratadas con OE de *U. dioica* EtOH-H₂O. El análisis de ácidos grasos y esteroides por GC-MS mostró la presencia de ácidos grasos insaturados y una alta concentración de lupeol conocida por su implicación en la reepitelización. Estos resultados demuestran la eficiencia de *U. dioica* EtOH-H₂O en la cicatrización de heridas y respaldan su uso tradicional.

Actualmente la sustancia activa de mayor prescripción es la clorhexidina, cuyo origen es químico y sus efectos adversos puede ser: pigmentación grisácea en piezas dentales y superficie lingual, alteración del sentido del gusto y obturación de la glándula parótida (Charles *et al* 2001); recientemente se ha asociado con citotoxicidad con digluconato de clorhexidina al 0.12% en ensayos in vitro (Torres-Capetillo *et al* 2013). Además de que su costo se incrementa por arriba del 100% en relación con los enjuagues de aceites esenciales disponibles en el mercado. Los aceites esenciales más utilizados y que cuentan con mayor respaldo científico son: timol (derivado del *Thymus vulgaris*), eucaliptol (*Eucalyptus globulus*), mentol (*Mentha piperita*). Los efectos adversos documentados para estos extractos se orientan principalmente a casos de alergia e irritación de tejidos blandos (Bindu 2001).

La presente propuesta busca evaluar la actividad antimicrobiana del extractos de las plantas de estudio contra *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sobrinus* los cuales son reconocidos en su actividad cariogénica, para de esta forma conocer sus alcances y su probable aplicación terapéutica para el manejo y prevención de la caries dental. como una herramienta alterna buscando que tenga menores efectos secundarios, que sea biorremedial y mayor accesible respecto al costo para el paciente.

5. MÉTODOS.

5.1 Selección y preparación del extracto natural

El material vegetal fue obtenido de un lugar reconocido de venta, el cual es identificado por el Biol. M.C. Mauricio González Ferrara en su establecimiento Pacalli. Los extractos fueron realizados en la Unidad de Odontología Integral y Especialidades del Centro de Investigación y Desarrollo en Ciencias de la Salud (CIDICS), de la Universidad Autónoma de Nuevo León.

La obtención del extracto se efectuó por el método de maceración. Esta técnica resulta ser una de las más simples y económicas para obtener el extracto de la planta. La maceración es un método de extracción de los principios activos de una planta en un líquido.

Se pesaron 100 gr de corteza de *Hippocratea excelsa* (Fig. 1), 100 gr de raíz de *Glychiriza glabra* (Fig. 2) y 50 gr de hojas y tallos jóvenes *Urtica dioica* (Fig. 3) y se le agregó 500 ml de alcohol etílico al 96% esta mezcla depositada en un matraz de vidrio por extracto (Fig. 4), posteriormente se tapa matraz con aluminio para evitar salpicaduras durante el movimiento o evitar entrada de contaminantes. Se hacen pequeños orificios en el aluminio para que levemente se vaya evaporando y se coloca en la incubadora orbital durante 24 horas. Una vez concluido el tiempo, se filtró el material vegetal y el solvente se extrajo mediante evaporación. El extracto seco fue pesado para obtener el rendimiento.



Fig. 1 *Hippocratea excelsa* 100 gr



Fig. 2 *Glychirrizia glabra* 100gr



Fig. 3 *Urtica dioica* 50 gr.



Fig. 4 Extractos con 500 ml de alcohol etílico al 96%

5.2 Test de difusión en disco

Se evaluó la actividad antimicrobiana de los extractos elegidos contra cepas bacterianas de *S. mutans* y *S. sobrinus* de la Colección del Cepario de la Unidad de Odontología Integral y Especialidades (CIDICS, UANL) procedentes de la línea ATCC. Se utilizó la

técnica de difusión en disco de agar preparando una suspensión de microorganismos a 0.05 de la escala de McFarland. Se evaluaron diferentes concentraciones del extracto a las dosis de 1000, 500, 250 y 125 µg/ml. Para ello se inoculando y sembrando sobre medio de cultivo Müeller Hinton, utilizando discos de papel filtro #5 de Whatsman y adicionando 10 microlitros del extracto a evaluar en diferentes concentraciones por triplicado y como control positivo clorhexidina al 0.12% y como control negativo agua destilada con alcohol al 5 %, incubando las cajas a 37 grados centígrados durante 24 horas. A las 13 y 48 horas de haber realizado la siembra se procedió a hacer las lecturas y el llenado de la ficha de recolección, tomando en cuenta:

1. Identificación de la muestra
2. Identificación de la concentración utilizada
3. Medida en milímetros del halo de inhibición formado.

Posteriormente se determinó la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) mediante la técnica de microdilución en placas de 96 pozos.

5.3 Evaluación de Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) mediante MTT.

Una vez analizados los resultados obtenidos por la prueba de sensibilidad en disco, se utilizaron dos placas estériles de 96 pozos y se determinó que dos de los tres extractos fueran probados para obtener la Concentración Mínima Inhibitoria. Para ello se preparó nuevamente medio de cultivo Müeller Hinton, y se activaron las cepas bacterianas de estudio, ajustando a una concentración de 0.05 en la escala de McFarland. Se colocaron 100 µl de medio de cultivo con la bacteria de referencia y la concentración a evaluar de 50,100,150, 200 y 250 µg/ml en la cantidad de 10µl. Se incubó por 4 horas y se aplican

10 μ l de MTT (Bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazo). Cada concentración fue evaluada por triplicado, estructurando la siguiente organización en la placa de 96 pozos: en la fila A del 1° al 3° pocillo se colocó el cultivo sin bacteria, en la fila A del 4° al 6° pocillo se colocó el medio de cultivo con la bacteria, en la fila B del 1° al 3° pocillo se colocó 10 μ l de clorhexidina al 0.12%, en la fila B del 4° al 6° pocillo se colocó el control negativo el cual fue de etanol al 10%. En la fila C del 1° al 3° pocillo se colocó el extracto a evaluar en una concentración de 50 μ g/ml, del pocillo 4° al 6° una concentración de 100 μ g/ml. En la fila D del 1° al 3° pocillo se colocó el extracto en una concentración de 150 μ g/ml y en el pocillo 4° al 6° una concentración de 200 μ g/ml. En la fila E del 1° al 3° pocillo se colocaron el extracto en una concentración 250 μ g/ml. La segunda especie de estudio se colocó en la misma secuencia iniciando en la fila F.



Fig. 5 Distribución en placa de cultivo de 96

6. RESULTADOS

A continuación, se describen los resultados encontrados a partir de los ensayos realizados.

En relación a los extractos obtenidos, se encontró el siguiente rendimiento:

Planta	Peso inicial	Peso de extracto obtenido	Porcentaje de rendimiento
<i>Hippocratea excelsa</i>	100 g	5.4 g	5.4 %
<i>Glychiriza glabra</i>	100 g	7.11 g	7.11 %
<i>Urtica dioica</i>	50 g	3.38 g	6.76 %

Los resultados de las pruebas de sensibilidad en disco, se muestran en las siguientes tablas:

Tabla 1. Actividad inhibitoria sobre *Streptococcus sobrinus* según la concentración del extracto natural de *Hippocratea excelsa* “Cancerina” en halos de inhibición en milímetros.

Prueba	CONCENTRACIÓN	<i>Hippocratea excelsa</i>			CONTROL POSITIVO	CONTROL NEGATIVO
		Disco 1	Disco 2	Disco 3		
1	1,000 µg/ml	5 mm	5 mm	5mm	18 mm	5 mm
2	500 µg/ml	13 mm	13 mm	13 mm	18 mm	5 mm
3	250 µg/ml	14 mm	14 mm	14 mm	18 mm	5 mm
4	125 µg/ml	10 mm	10 mm	10 mm	21 mm	5 mm

En los halos de inhibición de las cuatro concentraciones evaluados se observaron de manera bacteriostática ya que los halos observados no fueron conservados después de las 8 horas. Mientras que para el grupo de control positivo el valor más alto se ubica en el halo de 21 mm de manera bactericida.

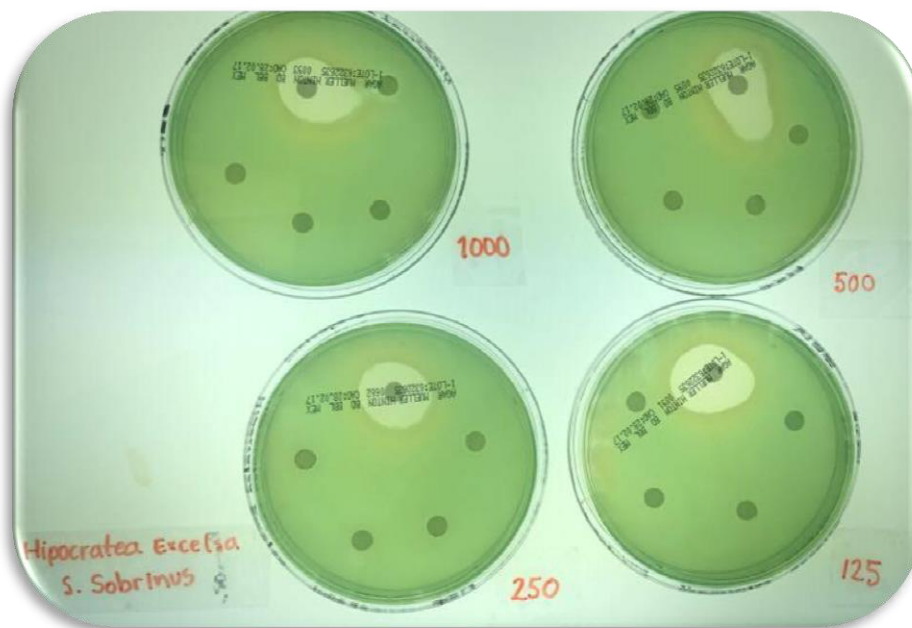


Fig. 6 Actividad inhibitoria sobre *Streptococcus sobrinus* según la concentración del extracto natural de *Hippocratea excelsa* “Cancerina”

Tabla 2. Actividad inhibitoria sobre *Streptococcus sobrinus* según la concentración del extracto natural de *Glychiriza glabra* “Oruzuz”

Prueba	CONCENTRACIÓN	<i>Glychiriza glabra</i>			CONTROL POSITIVO	CONTROL NEGATIVO
		Disco 1	Disco 2	Disco 3		
1	1,000 µg/ml	14 mm	14 mm	14 mm	19 mm	5 mm
2	500 µg/ml	17 mm	17 mm	17 mm	20 mm	6 mm
3	250 µg/ml	10 mm	10 mm	10 mm	19 mm	6 mm
4	125 µg/ml	11 mm	11 mm	11 mm	22 mm	5 mm

En los halos de inhibición de las cuatro concentraciones evaluados se observaron de manera bacteriostática ya que los halos observados no fueron conservados después de las 8 horas. Se observó actividad bacteriostática en la concentración de 1000 y 500 con halos de 14-17 mm, en las concentraciones de 250 y 125 mostraron halos de 10-11 mm. Mientras que para el grupo de control positivo el valor más alto se ubica en el halo de 21 mm de manera bactericida.

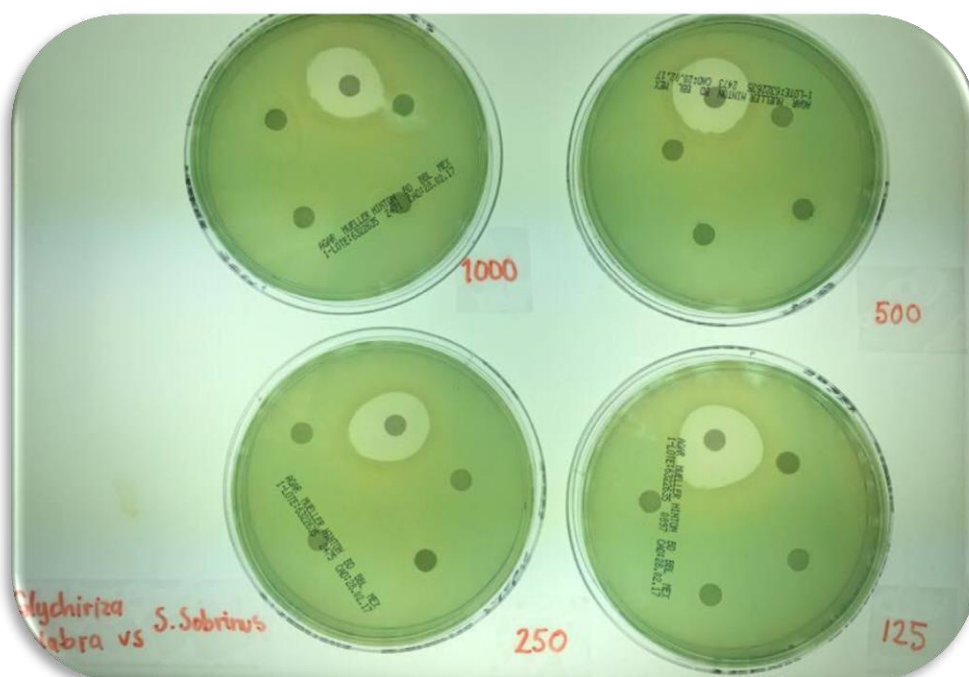


Fig. 7. Actividad inhibitoria sobre *Streptococcus sobrinus* según la concentración del extracto natural de *Glychiriza glabra* “Oruzuz”

Tabla 3. Actividad inhibitoria sobre *Streptococcus sobrinus* según la concentración del extracto natural de *Urtica dioica* “Ortiga”

Prueba	CONCENTRACIÓN	<i>Urtica dioica</i>			CONTROL POSITIVO	CONTROL NEGATIVO
		Disco 1	Disco 2	Disco 3		
1	1,000 µg/ml	14 mm	14 mm	14 mm	16 mm	6 mm
2	500 µg/ml	17 mm	17 mm	17 mm	15 mm	6 mm
3	250 µg/ml	19 mm	19 mm	19 mm	19 mm	6 mm
4	125 µg/ml	15 mm	15 mm	15 mm	19 mm	6 mm

En los halos de inhibición de las concentraciones de 125 µg/ml a 500 µg/ml se observan actividad bacteriostática, mientras que para el grupo de control positivo el valor más alto se ubica en el halo de 19 mm como bactericida. Los halos con actividad bacteriostática

en la concentración de 100 y 500 con halos de 17 mm, en las concentraciones de 250 y 125 mostraron halos de 15 mm.

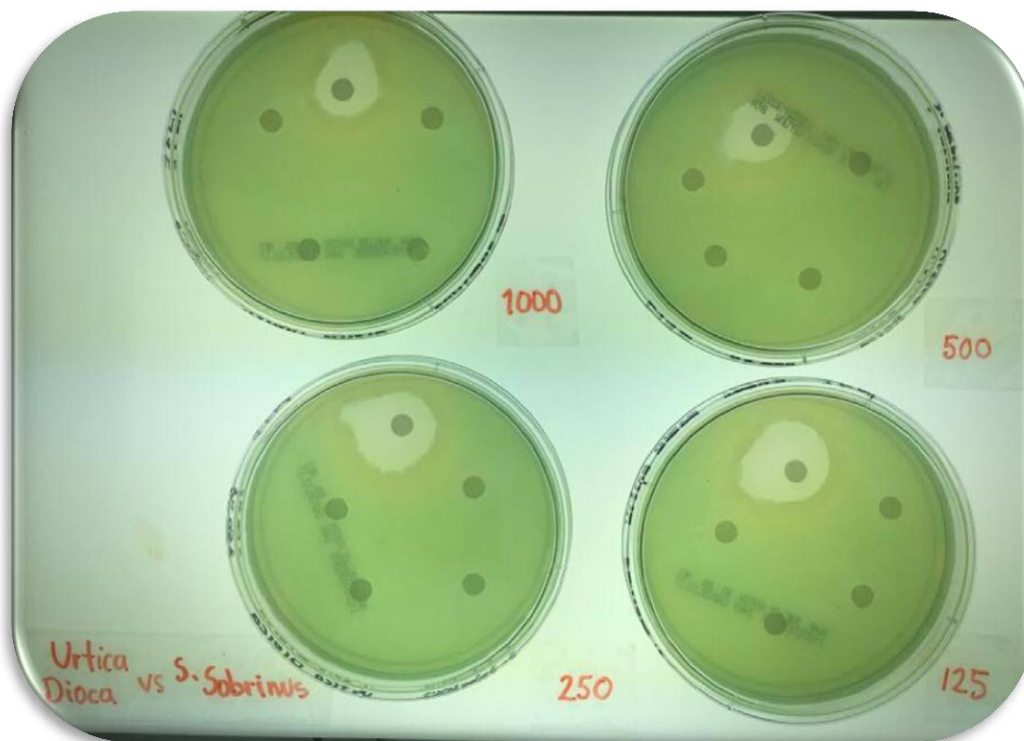


Fig. 8. Actividad inhibitoria sobre *Streptococcus sobrinus* según la concentración del extracto natural de *Urtica dioica* “Ortiga”

Tabla 4. Actividad inhibitoria sobre *Streptococcus mutans* según la concentración del extracto natural de *Hippocratea excelsa* “Cancerina”

Prueba	CONCENTRACIÓN	<i>Hippocratea excelsa</i>			CONTROL POSITIVO	CONTROL NEGATIVO
		Disco 1	Disco 2	Disco 3		
1	1,000 µg/ml	15 mm	15 mm	15 mm	14 mm	5 mm
2	500 µg/ml	17 mm	17 mm	17 mm	17 mm	5 mm
3	250 µg/ml	17 mm	17 mm	17 mm	15 mm	5 mm
4	125 µg/ml	15 mm	15 mm	15 mm	18 mm	5 mm

Se observó actividad bacteriostática en la concentración de 1,000 un halo de 15 mm. En la concentración de 500 un halo de hasta 17 mm. En las concentraciones de 250 y 125 halos de 15-17 mm.

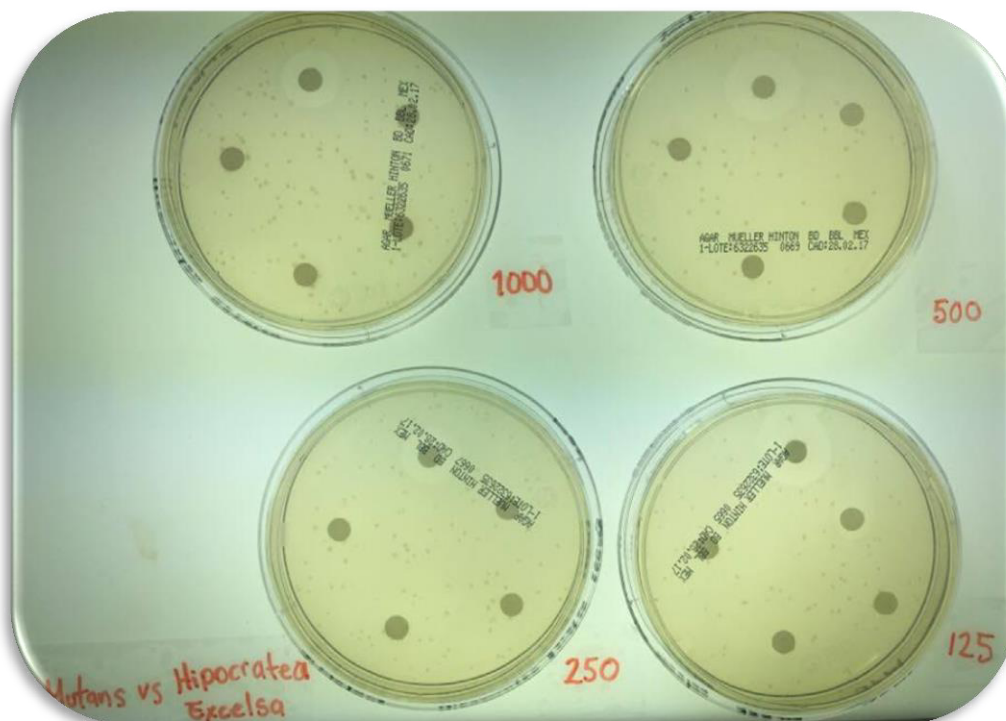


Fig. 9. Actividad inhibitoria sobre *Streptococcus mutans* según la concentración del extracto natural de *Hippocratea excelsa* “Cancerina”

Tabla 5. Actividad inhibitoria sobre *Streptococcus mutans* según la concentración del extracto natural de *Glychirrizia glabra* “Oruzuz”.

Prueba	CONCENTRACIÓN	<i>Glychirrizia glabra</i>			CONTROL POSITIVO	CONTROL NEGATIVO
		Disco 1	Disco 2	Disco 3		
1	1,000 µg/ml	15 mm	15 mm	15 mm	22 mm	5 mm
2	500 µg/ml	17 mm	17 mm	17 mm	23 mm	5 mm
3	250 µg/ml	26 mm	26 mm	26 mm	26 mm	5 mm
4	125 µg/ml	15 mm	15 mm	15 mm	23 mm	5 mm

En los halos de inhibición para la concentración de 125 se observa el valor más alto de 8 mm, mientras que para el grupo de control positivo el valor más alto se ubica en la

concentración de 250 con un halo de 26 mm. Se observó actividad bacteriostática en la concentración de 1,000 un halo de 16 mm. En la concentración de 500 un halo de hasta 17 mm. En las concentraciones de 250 de 19 mm y en concentración 125 halos de 15-18 mm.

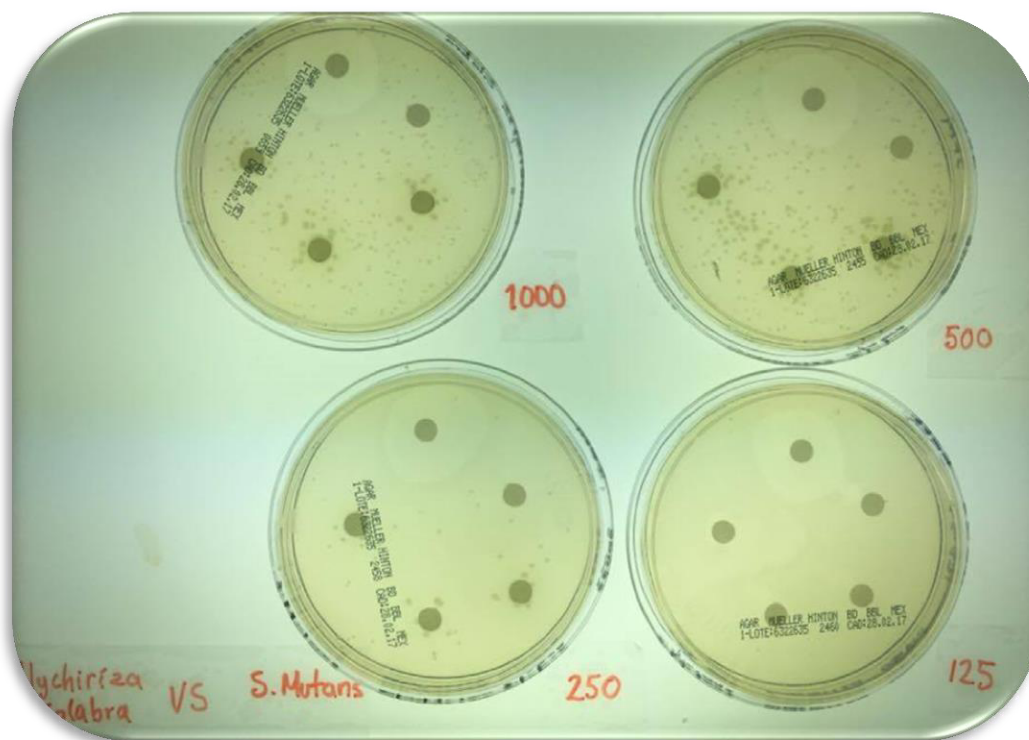


Fig. 10. Actividad inhibitoria sobre *Streptococcus mutans* según la concentración del extracto natural de *Glychiriza glabra* “Oruzuz”.

Tabla 6. Actividad inhibitoria sobre *Streptococcus mutans* según la concentración del extracto natural de *Urtica dioica* “Ortiga”

Prueba	CONCENTRACIÓN	<i>Urtica dioica</i>			CONTROL POSITIVO	CONTROL NEGATIVO
		Disco 1	Disco 2	Disco 3		
1	1,000 µg/ml	26 mm	26 mm	26 mm	20 mm	5 mm
2	500 µg/ml	20 mm	20 mm	20 mm	14 mm	5 mm
3	250 µg/ml	22 mm	22 mm	20 mm	22 mm	5 mm
4	125 µg/ml	20 mm	20 mm	21 mm	22 mm	5 mm

En los halos de inhibición para las cuatro concentraciones se observan los mismos valores de 5 mm, para el grupo de control positivo el halo más alto se ubica en las concentraciones de 250 $\mu\text{g/ml}$ y 125 $\mu\text{g/ml}$ con una medida de 22 mm. Se observó actividad bacteriostática en la concentración de 1,000 $\mu\text{g/ml}$ mostrando halos de hasta 26 mm. En la concentración de 500 $\mu\text{g/ml}$, halos de 20 mm. En la concentración de 250 $\mu\text{g/ml}$ halos de 17mm y en concentración de 125 $\mu\text{g/ml}$ halos de 18mm.

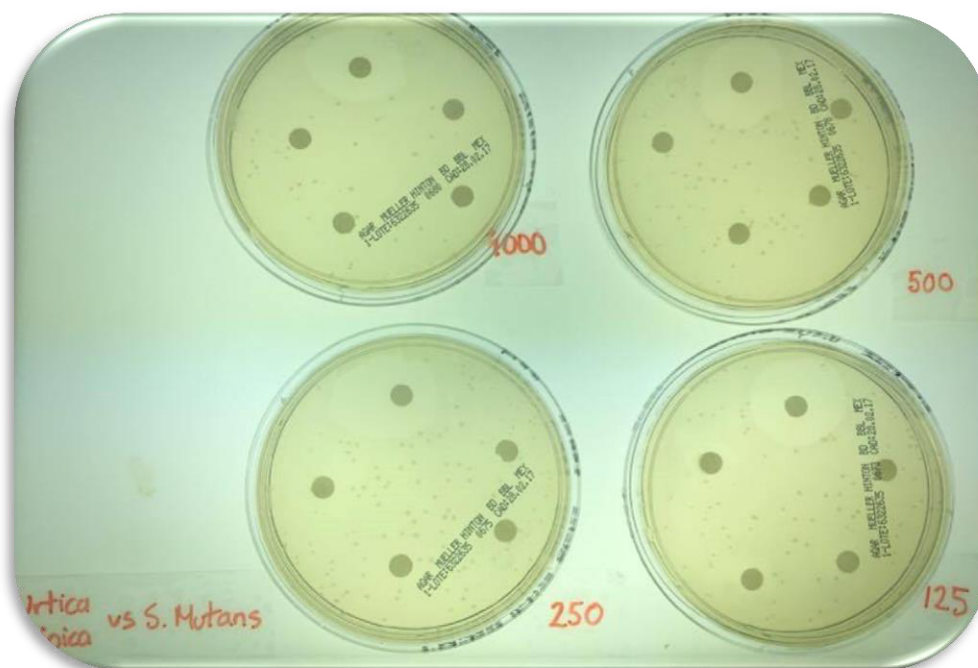
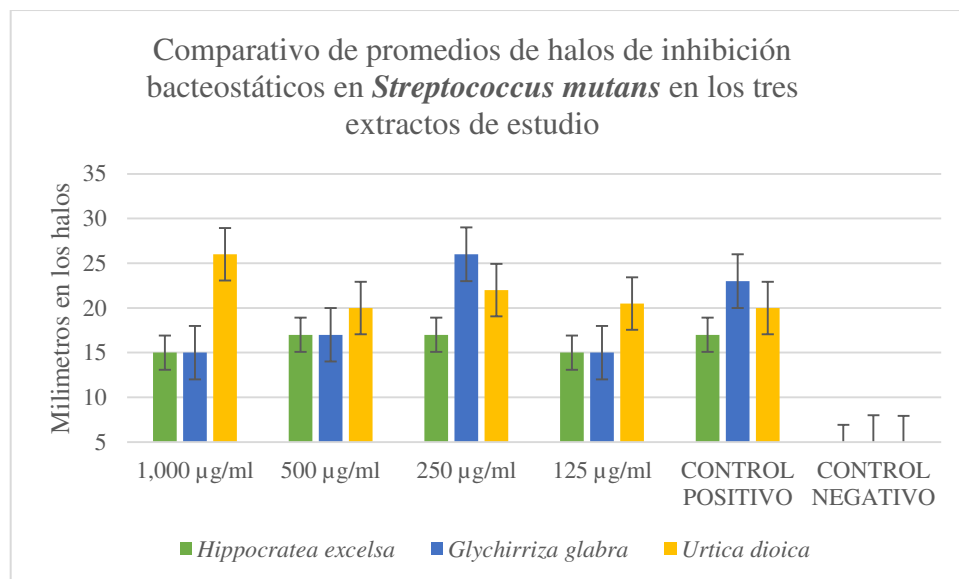
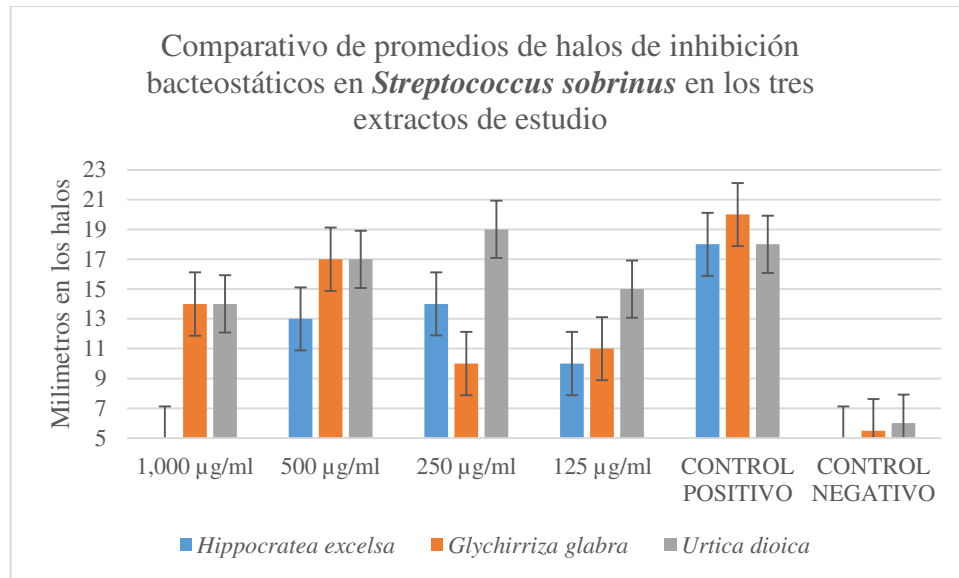
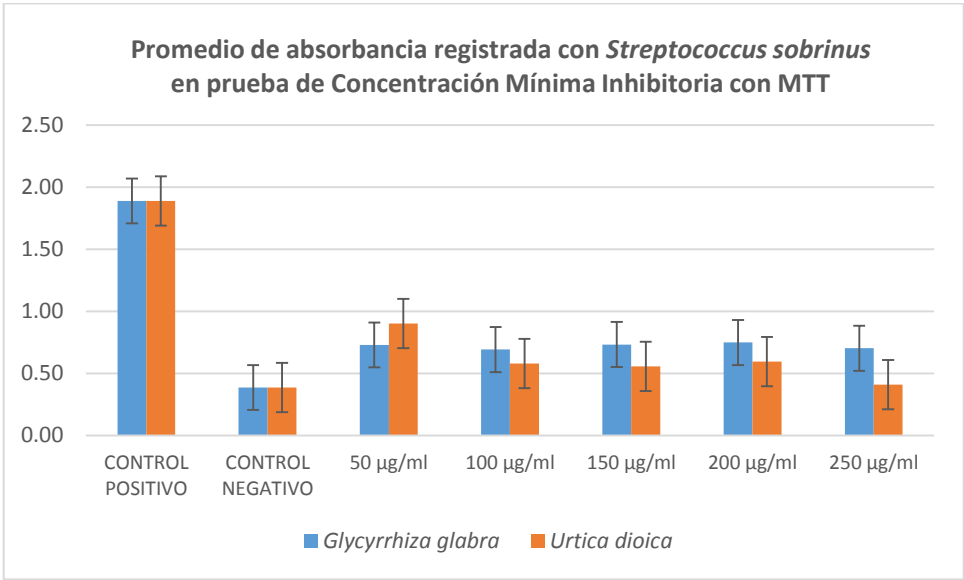


Fig. 11 Actividad inhibitoria sobre *Streptococcus mutans* según la concentración del extracto natural de *Urtica dioica* “Ortiga”

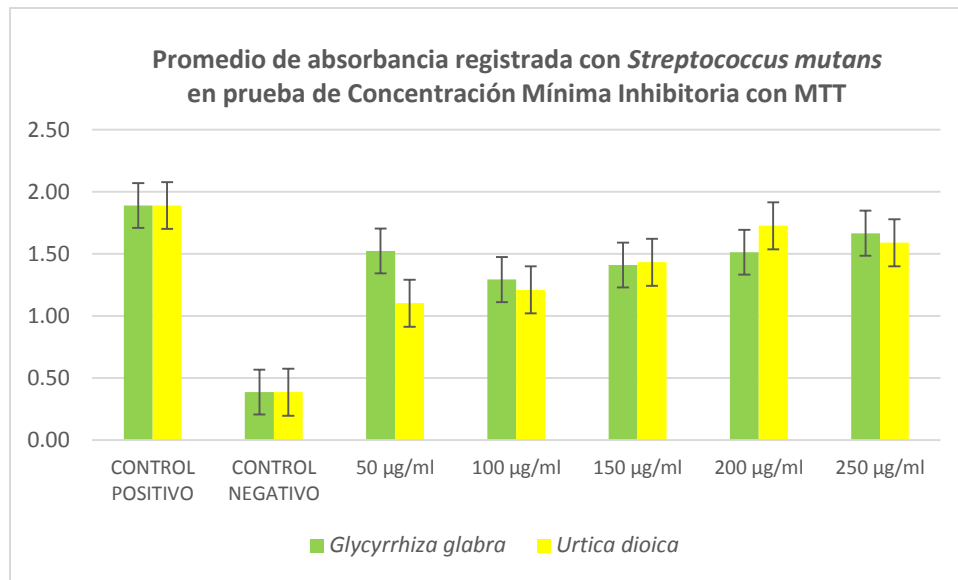


Considerando que la mejor actividad de inhibición biológica fueron los resultados para los extractos de *Glychirrizia glabra* y *Urtica dioica*, fueron para las cuales se realizó la prueba de Concentración Mínima Inhibitoria.

De los resultados obtenidos para obtener la concentración mínima inhibitoria (CMI) se encontró que contra *Streptococcus sobrinus* el extracto con mayor actividad inhibitoria fue el de *Urtica dioica* con la dosis mínima de 50 µg/ml, en el caso del extracto de *Glycyrrhiza glabra* se comporto con una inhibición promedio en las cinco concentraciones evaluadas, considerando por tanto la de 50 µg/ml como la mínima inhibitoria (ver tabla).



Para los extractos evaluados contra la bacteria *Streptococcus mutans* se observó una mayor inhibición con el extracto de *Urtica dioica* en la concentración de 200 µg/ml y la de *Glycyrrhiza glabra* con 250 µg/ml, la actividad contra la bacteria *S. mutans* fue mayor que con *S. sobrinus*, con registros de absorbancia cercanos a los registrados con el control positivo (Clorhexidina al 0.12%).



7. DISCUSIÓN

Azmoudeh *et al.*, en el 2017 realizo un estudio en el cual demostró que el extracto de raíz de *Glychiriza glabra* tuvo un efecto antibacteriano contra el *Streptococcus mutans*, al igual que lo registrado por el presente estudio. Cabe resaltar que en el reporte de Azmoudeh *et al*, se utilizó el método de dilución de macro-caldo, y en este estudio se realizó la metodología de difusión en disco y concentración mínima inhibitoria con MTT obteniendo el mismo resultado.

Para el extracto de *Urtica dioica*, Salehzadeh *et al.*, en el 2014 reportan efecto antimicrobiano de contra *Staphylococcus aureus* donde se demostró buena efectividad antimicrobiana. No se encontraron registros sobre la actividad contra *S. mutans*, para que sean confrontados, sin embargo podemos mencionar que este extracto presentó mayor actividad inhibitoria contra *S. mutans* que contra *S. sobrinus*.

Es de interés mencionar que aunque los extractos de estudio presentaron efecto de tipo bacteriostáticos, no dejan de ser de importancia recordando que dentro de la microflora bacteriana hay componentes que no deben de ser alterados proveen de equilibrio entre los integrantes de la flora, en lo posible se recomienda que las sustancias terapéuticas sean cada vez mas específicas en relación a las bacterias que se requieran afectar.

8. CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos se concluye que se acepta parcialmente la hipótesis de estudio donde se afirma que los extractos de las plantas *Hippocratea excelsa*, *Glychiriza glabra* y *Urtica dioica* presentan actividad antimicrobiana en la evaluación antibacteriana *in vitro* con *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sobrinus*, ya que aunque los tres presentaron actividad inhibitoria, fue de manera parcial mediante un efecto bacteriostático, ya que el halo de inhibición presentado en las pruebas fue colonizado tiempo después por las bacterias.

El extracto que presentó mayor actividad inhibitoria fue el de *Urtica dioica* con una CMI para *Streptococcus sobrinus* de 50 µg/ml y para *Streptococcus mutans* de 200 µg/ml. El segundo extracto con mejores resultados fue el de *Glychyrrhiza glabra* que no tuvo una inhibición importante con *S. sobrinus*, sin embargo con *S. mutans* presentó una CMI a la dosis de 250 µg/ml.

Por lo tanto, se considera que los extractos de *Urtica dioica* y *Glychyrrhiza glabra* son los más específicos para evaluar su desempeño como opción terapéutica contra la caries dental, sin embargo, se recomienda que se realicen mas estudios respecto a su selectividad contra mas bacterias cariogénicas como *Lactobacillus acidophillus*, y concluyendo su efectividad continuar con estudios de citotoxicidad y mutagenecidad para garantizar la seguridad para su uso clínico.

9. LITERATURA CITADA

1. Agarwal P, Karamalakova Y, Adhikari M, Gupta D, Nikolova G, Hadzhibozheva P, Gadjeva V, Stoev S, Arora R, Zheleva A. (2015) Investigations on DPPH scavenging capacity before and after UV-irradiation of aqueous root extract of *Glycyrrhiza glabra*. *BioSci. Biotechnol.* 183-188
2. Akram R, Saqib M, Khalid B, Arshad A. (2015) Effects of Extraction Media and Techniques on the Antioxidant Properties and Recovery of Phenolics from Roots of *Glycyrrhiza Glabra*. *J Mol Pathophysiol.* 4(4)
3. Araujo J, Durcy L, Ruiz C, Isolina T, Martinez C, Osiris Z, Cantillo C. (2015) Comparative fingerprint analyses of extracts from the root bark of wild *Hippocratea excelsa* and “Cancerina” by high-performance liquid chromatography. *J. Sep. Sci.* 38, 3870–3875
4. Arnold E, Benz T, Zapp C, Wink M. (2015) Inhibition of Cytosolic Phospholipase A2 α (cPLA2 α) by Medicinal Plants in Relation to Their Phenolic Content. *Molecules.* 17;20(8):15033-15048.
5. Bahmani M, Sarrafchi A, Shirzad H, Shahinfard N, Rafieian M, Shahsavari S, Baharvand B, Taherikalani M, Ghafourian S. (2015) Pharmaceutical, phytochemical, and economical potentials of *Glycyrrhiza glabra* L: a review. *Journal of chemical and pharmaceutical sciences.* 8(4)
6. Banavar R, Nirupad S, Chippagiri P, Pandurangappa R (2017). Antibacterial Effects of Natural Herbal Extracts on *Streptococcus mutans*: Can They Be Potential Additives in Dentifrices?. *International Journal of Dentistry.* Vol. 2017. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29201054>

7. Berlutti F, Catizone A, Ricci G, Frioni A, Natalizi T, Valenti P, Polimeni A. (2010) *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* are able to adhere and invade human gingival fibroblast cell line. *Int J Immunopathol Pharmacol.* 23(4):1253-60.
8. Bnouham M, Merhfouf F, Ziyat A, Mekhfi H, Mohammed Aziz M, Legssyer A. (2003) Antihyperglycemic activity of the aqueous extract of *Urtica dioica*. *Elsevier* 677–681
9. Calzada F, Mata R. (1995) Hippocrateine III, a sesquiterpene alkaloid from *hippocratea Excelsa*. *Elservier Science.* 40(2): 583-585
10. Chandra Shekar BR, Nagarajappa R, Suma S, Thakur R.
11. Choy S, Fernández W, Morocho S, Pérez L, Rojas C, Vargas Y, Yzazaga B, Zúñiga A. (2015) Nivel de conocimientos y uso fitoterapeuta en Artritis Reumatoide en el Hospital Nacional Sergio E. Bernales Durante el periodo. Tesis pág 7
12. Déciga M, Rivero I, Arriaga M, Castañeda G, Angeles G, Navarrete A, Mata R. (2007) Acute toxicity and mutagenic activity of Mexican plants used in traditional medicine. *Journal of Ethnopharmacology* 110:334–342
13. Department of Biochemistry, Cancer Research and Molecular Biology Laboratories, University of Ibadan, Ibadan, Oyo State, Nigeria Pharmacognosy. *Research* 2013;5(3)
14. Douglass JM1, Li Y, Tinanoff N. (2008) Association of mutans streptococci between caregivers and their children. *Pediatr Dent.* 30(5):375-87.
15. Garay A, Altuve, Castillo L, González A, Yopez J. (2014) Plasma rico en plaquetas en la cicatrización de tejidos blandos de la cavidad bucal. *Acta bioclinica.*4(7)
16. Giacaman R, Muñoz C, Bravo E, Farfan P, (2013). Quantification of caries-associated bacteria from saliva of adults and older adults. *Revista Clinica de Periodoncia, Implantologia y Rehabilitación Oral.* Vol. 6 (2)

17. Guerrero V, Godinez A, Melchor C. (2013) Epidemiology of Tooth Decay and Risk Factors Associated to Primary Dentition in Preschoolers. *Revista ADM*. 15(3)
18. Guo A, He D, Xu HB, Geng CA, Zhao J. (2015) Promotion of regulatory T cell induction by immunomodulatory herbal medicine licorice and its two constituents. *Sci Rep*. 5:14046.
19. Hao S, Baltimore D. (2009) The stability of mRNA influences the temporal order of the induction of genes encoding inflammatory molecules. *Nat Immunol*. 10(3):281-288.
20. Haraguchi H, Yoshida N, Ishikawa H, Tamura Y, Mizutani K and Kinoshita T. (2012) Protection of mitochondrial functions against oxidative stresses by isoflavans from *Glycyrrhiza glabra*. *J. Pharm. Pharmacol*. 52: 219-223.
21. Herbal extracts in oral health care - A review of the current scenario and its future needs. *Pharmacogn Rev*. 2015;9(18):87-92.
22. Ilies D, Tudor I, Radulescu V. (2012) Chemical composition of the essential oil of *Urtica dioica*. *Chemistry of Natural Compounds*. 48(3)
23. Karami Z, Mirzaei H, Emam-Djomeh Z, Sadeghi Mahoonak AR. and Khomeiri M. (2013) Effect of harvest time on antioxidant activity of *Glycyrrhiza glabra* root extract and evaluation of its antibacterial activity. *Int. Food Research J*. 20(5): 2951-2957.
24. Kimbrell DA, Beutler B. The evolution and genetics of innate immunity.(2001) *Nat Rev Genet*. 2(4):256-267.
25. Lodi G, Figini L, Sardella A, Carrassi A, Del Fabbro M, Furness S. (2013) Antibiotics to prevent complications following tooth extractions. *Cochrane Oral Health Group*.
26. Macía G, Nájera F, Guerra A, Gutiérrez A, Peña G, Acero J. (2011) Cervicofacial actinomycosis after orthognathic surgery: a case report. *Rev Esp Cirug Oral y Maxilofac*. 33(2):75-78.

27. Mayor F, Pérez J.A, Cid M., Martínez I., Martínez, J. (2014). La caries dental y su interrelación con algunos factores sociales. *Revista Médica Electrónica*.36(3)
28. McCall CE, Gazzar M, Liu T, Vachharajani V, Yoza B. (2011) Epigenetics, bioenergetics, and microRNA coordinate gene-specific reprogramming during acute systemic inflammation. *J Leukoc Biol*. 90(3):439-46.
29. McCall CE, Yoza B, Liu T, El Gazzar M. (2010) Gene-specific epigenetic regulation in serious infections with systemic inflammation. *J Innate Immun*. 2(5):395-405.
30. Mena G, Pérez A, Moo R, Cedillo R, Bazzocchi I, Jiménez I, Quijano L. (2007) Antigiardial Activity of Triterpenoids from Root Bark of *Hippocratea excelsa*. *Journal of Natural Products*. 70(5)
31. Metwalli KH, Khan SA, Krom BP, Jabra-Rizk MA (2013) *Streptococcus mutans*, *Candida albicans*, and the Human Mouth: A Sticky Situation. *PLoS Pathog* 9(10): e1003616.
32. Molina N, Duran D, Castañeda E, Juárez M, (2015). La caries y su relación con la higiene oral en preescolares mexicanos. *Gaceta Médica de México*. (151), 485-90.
33. Motamedi H, Seyyednejad SM, Bakhtiari A, Vafaei M. (2014) Introducing *Urtica dioica*, A Native Plant of Khuzestan, As an Antibacterial Medicinal Plant. *Jundishapur J Nat Pharm Prod*. 11;9(4)
34. Nitalikar M, Munde K, Dhore B, Shikalgar S. (2010) Studies of Antibacterial Activities of *Glycyrrhiza glabra* Root Extract. *J PharmTech Res* 2(1), 899-901.
35. Owumi S, Odunola O, Gbadegesin M, Nulah K. (2013) Protective effect of *Juglans nigra* on sodium arsenite-induced toxicity in rats. *Pharmacognosy Res*. 5(3):183-188.
36. Prieto I; Prieto A, Bascones A. (2005) Corticoesteroides y cirugía del tercer molar inferior: Revisión de la literatura. *Av Odontoestomatol*. 21(5): 251-258.

37. Reed SG, Cunningham JE, Latham TN, Shirer SC, Wagner CL. (2014) Maternal oral mutans streptococci (MS) status, not breastfeeding, predicts preterm infant oral MS status. *Breastfeed Med.* 9(9):446-9.
38. Sajadi F, Moradi M, Pardakhty A, Yazdizadeh R, Madani F. (2015) Effect of Fluoride, Chlorhexidine and Fluoride-chlorhexidine Mouthwashes on Salivary Streptococcus mutans Count and the Prevalence of Oral Side Effects. *J Dent Res Dent Clin Dent Prospects.* 9(1):49-52.
39. Salehzadeh A, Asadpour L, Naeemi AS, Houshmand E. (2014) Antimicrobial activity of methanolic extracts of *Sambucus ebulus* and *Urtica dioica* against clinical isolates of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Afr J Tradit Complement Altern Med.* 23;11(5):38-40.
40. Velnar T, Baley T, Smrkolj V. (2009) The wound healing process: an overview of the cellular and molecular mechanisms. *J Int Med Res.* 37:1528-1542.
41. Villa M, Barajas J. Estudio anatómico de *hippocratea excelsa*. (*hippocrateaceae*) (1998) *Acta Botánica Mexicana* 43:7-21
42. Wade W. (2013) The oral microbiome in health and disease. 69;(1):137-143
43. Wang AS, Armstrong EJ, Armstrong AW. (2013) Corticoides y cicatrización de las heridas. Efectos de los corticoides sobre la cicatrización de las heridas de acuerdo al tipo, dosis, cronicidad y momento de la administración en relación con la cirugía. *Am J Surg* 206(3): 410-417
44. Wiggins G, Grant J, Lambdin P, Merten P, Nix K, Hadziabdic D, Windham M. (2014) Discovery of Walnut Twig Beetle, *Pityophthorus juglandis*, Associated with Forested Black Walnut, *Juglans nigra*, in the Eastern U.S. *Forests.* 5(6):1185-1193.
45. Azmoudeh F, Aslanimehr M, Lourizadeh N. (2017) Effect of *glycyrrhiza glabra* extract

- on *Streptococcus mutans* and *Candida albicans* (in vitro study). Urmia Medical Journal, 28(6): 400-393.
46. Aiello F, Armentano B, Polera N, Carullo G, Loizzo MR, Bonesi M, Cappello MS, Capobianco L, Tundis R. (2017) From Vegetable Waste to New Agents for Potential Health Applications: Antioxidant Properties and Effects of Extracts, Fractions and Pinocembrin from *Glycyrrhiza glabra* L. Aerial Parts on Viability of Five Human Cancer Cell Lines. *J. Agric. Food Chem.* 65 (36),7944–7954
 47. Kucharska-Ambrożej K. (2017) The primary knowledge of chemistry and biological activity of liquorice (*Glycyrrhiza glabra* L.). *Post Fitoter*; 18(2): 158-164
 48. Razika L, Thanina AC, Nadjiba CM, Narimen B, Mahdi DM, Karim A. (2017) Antioxidant and wound healing potential of saponins extracted from the leaves of Algerian *Urtica dioica* L. *Park J Pharm Sci*; 30(3):1023-1029
 49. Moradi P, Amini K. (2017) Extraction and Identification of *Urtica dioica* L Extract and Its Antibacterial and Antifungal Properties. *Mazandaran Univ Med Sci*; 27 (151): 74- 85
 50. Bouassida K, Bardaa S, Khimiri M, Rebaii T, Tounsi S, Jlaiel L, Trigui M. (2017) Exploring the *Urtica dioica* Leaves Hemostatic and Wound-Healing Potential. *BioMed Research International*, Article ID 1047523, 10 pages
 51. Eby Aluckal, Asif Ismail, Anoop Paulose, Sanju Lakshmanan, M S Balakrishnan, Benoy Mathew, Vikneshan M, and Abraham Kunnilathu (2017). Assessment of Total Antioxidant Capacity and Antimicrobial Activity of *Glycyrrhiza glabra* in Saliva of HIV-Infected Patients. *J Pharm Bioallied Sci*: 237–240